

KOLIČINA FENOLNIH JEDINJENJA I ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST ODABRANIH VRSTA RODA *TEUCRIUM*

Milan Stanković¹, Nenad Zlatić¹

Izvod: Količina fenolnih jedinjenja, flavonoida kao i antioksidativna aktivnost analizirani su u metanolnim, etanolnim, acetonskim i etil acetatnim ekstraktima biljnih vrsta *Teucrium fruticans* L., *T. flavum* L. i *T. chamaedrys* L. (Lamiaceae). Količina ukupnih fenolnih jedinjenja je u opsegu od 45,91 do 271,47 mg GA/g ekstrakta. Količina flavonoida je u opsegu od 40,56 do 123,64 mg RU/g ekstrakta. Najveća količina ukupnih fenolnih jedinjenja izmerena je u metanolnom ekstraktu vrste *T. chamaedrys*, dok je najveća količina flavonoida izmerena u acetonskom ekstraktu vrste *T. fruticans*. Antioksidativna aktivnost je od 129,33 do 6,45 µg/ml. Najvišu antioksidativnu aktivnost ispoljava metanolni ekstrakt vrste *T. chamaedrys*.

Ključne reči: *Teucrium*, fenolna jedinjenja, flavonoidi, antioksidativna aktivnost

Uvod

Rod *Teucrium* pripada porodici Lamiaceae. Neke od vrsta koje pripadaju rodu *Teucrium* su poznate lekovite vrste i imaju široku primenu u farmakologiji i tradicionalnoj medicini. Lekovite vrste roda *Teucrium* se koriste u tretmanu bolesti digestivnog trakta, reumatizma, dijabetesa i upalnih procesa. Najčešće grupe sekundarnih metabolita zastupljene u vrstama roda *Teucrium* su fenolne kiseline, flavonoidi, monoterpeni, diterpeni, seskviterpeni i dr. Zbog karakterističnog kvantitativno-kvalitativnog sastava sekundarnih metabolita, biljne vrste roda *Teucrium* ispoljavaju različite tipove biološke aktivnosti kao što su: antioksidativna, antikancerogena, antiinflamatorna, antimikrobna i antivirusna aktivnost (Stanković, 2012).

Teucrium fruticans L. je višegodišnja večnozeleno žbunasta biljka sa izdancima visine do 2 m. Nadzemni deo je granat, listovi su ovalni, sa izraženim indumentumom, cvetovi sitni, plave boje. Vrsta naseljava termofilna staništa u zapadnom Mediteranskom regionu, dok je ostalim delovima Mediterana zastupljena kao gajena vrsta (Frabetti i sar., 2009).

Teucrium flavum L. je višegodišnja zimzelena žbunasta biljka sa izdancima visine do 60 cm. Stablo ove vrste je uspravno, dlakavo i granato, sa jajastim, blago nazubljenim listovima i sitnim cvetovima blede žute boje. Vrsta najčešće naseljava kserofilna krečnjačka staništa do 200 m nadmorske visine. Zastupljena je u vegetaciji makije i gariga u Mediteranskom regionu (Menichini i sar., 2009).

Teucrium chamaedrys L. je višegodišnja zeljasta biljka sa izdancima visine do 30 cm. Nadzemni deo je umereno granat sa ovalnim nazubljenim listovima i sitnim

¹Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija (mstankovic@kg.ac.rs)

cvetovima na vrhu. Vrsta naseljava termofilna krečnjačka staništa do 1000 m nadmorske visine u većem delu Evrope i zapadnoj Aziji (Stanković i sar., 2010).

Cilj istraživanja je komparativna analiza sadržaja ukupne količine fenolnih jedinjenja, flavonoida, kao i antioksidativne aktivnosti ekstrakata nadzemnih delova vrsta *Teucrium fruticans*, *T. flavum* i *T. chamaedrys* dobijenih ekstrakcijom pomoću metanola, etanola, acetona i etil acetata kao rastvarača.

Materijal i metode rada

Vrsta *Teucrium fruticans* uzorkovana je sa lokaliteta Bar (Crna gora), dok je vrsta *Teucrium flavum* uzorkovana sa lokaliteta Jaz (Crna Gora), u maju mesecu 2015. godine. Vrsta *Teucrium chamaedrys* uzorkovana je sa lokaliteta Trgovište (Srbija), u junu mesecu 2015. godine. Identifikacija uzorkovanih primeraka je izvršena u Institutu za biologiju i ekologiju, Prirodno-matetičkog fakulteta Univerziteta u Kragujevcu.

Osušen biljni materijal (10 g) pomešan je sa 100 ml rastvarača (metanol, etanol, aceton i etil acetat) i ekstrahovan na sobnoj temperaturi. Dobijeni biljni ekstrakti su čuvani na temperaturi od 4 °C do analiza.

Ukupna količina fenolnih jedinjenja u biljnim ekstraktima je određena primenom spektrofotometrijske metode (Stanković i sar., 2015). Dobijene vrednosti za količinu fenolnih jedinjenja u biljnim ekstraktima izražene su kao ekvivalent galne kiseline (mg GA g ekstrakta).

Količina flavonoida u ekstraktima određena je primenom spektrofotometrijske metode (Stanković i sar., 2015). Ukupna koncentracija flavonoida u biljnim ekstraktima izražena je kao ekvivalent rutina (mg RU g ekstrakta).

Sposobnost biljnih ekstrakata da neutrališu DPPH radikale određena je spektrofotometrijskom metodom (Stanković i sar., 2015). Step en inhibicije izračunat je u procentima pomoću jednačine: % inhibicije = $100 \times (A \text{ kontrole} - A \text{ uzorka}) / A \text{ kontrole}$. Na osnovu dobijenih procenata inhibicije, izračunate su IC_{50} vrednosti antioksidativne aktivnosti izražene u $\mu\text{g/ml}$. Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna devijacija ($n = 3$).

Statistička obrada rezultata merenja sprovedena je primenom SPSS (Čikago, Illinois) statističkog softver paketa (SPSS za windows, verzija XII, 2004).

Rezultati istraživanja i diskusija

Rezultati ukupne količine fenolnih jedinjenja u ekstraktima nadzemnih biljnih delova vrsta *Teucrium fruticans*, *T. flavum* i *T. chamaedrys* prikazani su u Tabeli 1.

Dobijene vrednosti za količinu ukupnih fenolnih jedinjenja su u opsegu od 45,91 do 271,47 mg GA/g ekstrakta. Vrednosti za količinu ukupnih fenolnih jedinjenja za vrstu *Teucrium fruticans* su u opsegu od 45,91 do 164,21 mg GA/g ekstrakta. Za vrstu *Teucrium flavum* od 56,75 do 157,39 mg GA/g ekstrakta, dok su za vrstu *Teucrium chamaedrys* od 50,03 do 271,47 mg GA/g ekstrakta.

Tabela 1. Količina ukupnih fenolnih jedinjenja u ekstraktima ispitivanih vrsta roda *Teucrium* prikazana kao ekvivalent galne kiseline (mg GA/g ekstrakta).

Table 1. The total phenolic content in the extracts of analysed species of the genus *Teucrium* represented as the equivalent of gallic acid (mg GA/g of extract).

Ispitivane vrste <i>Analysed species</i>	Tip ekstrakta <i>Type of extract</i>			
	Metanolni <i>Methanolic</i>	Etanolni <i>Ethanollic</i>	Acetonski <i>Acetonic</i>	Etil acetatni <i>Ethyl acetate</i>
<i>Teucrium fruticans</i>	164,21 ± 1,07	163,18 ± 1,51	127,17 ± 2,50	45,91 ± 1,16
<i>Teucrium flavum</i>	157,39 ± 6,14	106,33 ± 1,05	117,27 ± 1,53	56,75 ± 0,74
<i>Teucrium chamaedrys</i>	271,47 ± 3,50	224,12 ± 3,34	105,29 ± 2,05	50,03 ± 0,54

Najveću količinu ukupnih fenolnih jedinjenja sadrži vrsta *Teucrium chamaedrys*. Vrsta *Teucrium chamaedrys* se izdvaja po najvećoj količini ukupnih fenolnih jedinjenja u metanolnom i etanolnom ekstraktu dok se vrsta *Teucrium fruticans* izdvaja po najvećoj količini fenolnih jedinjenja u acetonskom ekstraktu. Vrsta *Teucrium flavum* sadrži najviše ispitivanih jedinjenja u etil acetatnom ekstraktu.

Metanolni i etanolni ekstrakti ispitivanih biljnih vrsta sadrže najveću količinu fenolnih jedinjenja. Acetonski ekstrakti sadrže niže količine, dok su etil acetatni ekstrakti sa najnižom količinom ukupnih fenolnih jedinjenja. Na osnovu dobijenih rezultata za ukupnu količinu fenolnih jedinjenja može se prikazati poredak u količini prema tipu rastvarača za vrste *Teucrium frutican* i *T. chamaedrys*: metanol > etanol > aceton > etil acetat. Za vrstu *Teucrium flavum*: metanol > aceton > etanol > etil acetat. Poređenjem rezultata uočava se da količina ukupnih fenolnih jedinjenja u velikoj meri varira u zavisnosti od biljne vrste i tipa ekstrakta. Razlika u količini ukupnih fenolnih jedinjenja u ispitivanim ekstraktima je posledica različitog stepena rastvorljivosti fenolnih jedinjenja. U dosadašnjim istraživanjima pokazano je da su metanol i etanol bolji rastvarači za fenolna jedinjenja nego umereno ili manje polarni kao što su aceton i etil acetat (Shi i sar., 2005).

Rezultati ukupne količine flavonoida u različitim tipovima ekstrakta vrsta *Teucrium fruticans*, *T. flavum* i *T. chamaedrys* prikazani su u Tabeli 2.

Tabela 2. Količina flavonoida u ekstraktima ispitivanih vrsta roda *Teucrium* prikazana kao ekvivalent rutina (mg Ru/g ekstrakta).

Table 2. The quantity of flavonoids in the extracts of the analysed species of the genus *Teucrium* represented as the equivalent of rutin (mg Ru/g of extract).

Ispitivane vrste <i>Analysed species</i>	Tip ekstrakta <i>Type of extract</i>			
	Metanolni <i>Methanolic</i>	Etanolni <i>Ethanollic</i>	Acetonski <i>Acetonic</i>	Etil acetatni <i>Ethyl acetate</i>
<i>Teucrium fruticans</i>	88,22 ± 0,89	71,14 ± 0,79	123,64 ± 1,89	69,20 ± 0,43
<i>Teucrium flavum</i>	41,28 ± 0,64	40,56 ± 0,25	73,11 ± 0,89	59,74 ± 0,22
<i>Teucrium chamaedrys</i>	46,00 ± 0,11	44,26 ± 0,37	60,02 ± 1,14	65,33 ± 0,62

Dobijene vrednosti za količinu flavonoida su u opsegu od 40,56 do 123,64 mg Ru/g ekstrakta. Vrednosti za vrstu *Teucrium fruticans* su u opsegu od 69,20 do 123,64 mg Ru/g ekstrakta. Za vrstu *Teucrium flavum* od 40,56 do 73,11 mg Ru/g ekstrakta, dok su za vrstu *Teucrium chamaedrys* od 44,26 do 65,33 mg Ru/g ekstrakta. Poredeći vrednosti ispitivanih ekstrakata, najveću količinu flavonoida sadrži vrsta *Teucrium fruticans*, dok su druge dve vrste približne po vrednostima. Vrsta *Teucrium fruticans* se izdvaja po najvećoj količini flavonoida u svim tipovima ekstrakata u odnosu na druge dve vrste. Najveća količina flavonoida izmerena je u acetonskom ekstraktu vrste *Teucrium fruticans*.

Na osnovu dobijenih rezultata za koncentraciju flavonoida u ispitivanim ekstraktima određenih biljnih vrsta koje pripadaju rodu *Teucrium*, primećeno je da su najveće koncentracije flavonoida zastupljene u ekstraktima za čiju su pripremu korišćeni rastvarači umerene polarnosti. Na osnovu dosadašnjih istraživanja pokazano je da koncentracija flavonoida u biljnim ekstraktima zavisi od polarnosti rastvarača korišćenog za pripremu ekstrakata, pri čemu se kao najefikasniji izdvaja aceton (Min i Chun-Zhao, 2005).

Dobijeni rezultati za antioksidativnu aktivnost ekstrakata ispitivanih vrsta prikazani su u Tabeli 3, gde manje brojčane vrednosti ukazuju na veću aktivnost i obrnuto.

Tabela 3. Antioksidativna aktivnost ekstrakata ispitivanih vrsta roda *Teucrium* prikazana kao IC_{50} vrednosti u $\mu\text{g/ml}$.

Table 3. Antioxidant activity in the extracts of the analysed species of the genus *Teucrium* represented as IC_{50} values in $\mu\text{g/ml}$.

Ispitivane vrste <i>Analysed species</i>	Tip ekstrakta <i>Type of extract</i>			
	Metanolni <i>Methanolic</i>	Etanolni <i>Ethanolic</i>	Acetonski <i>Acetonic</i>	Etil acetatni <i>Ethyl acetate</i>
<i>Teucrium fruticans</i>	9,72 ± 0,06	11,44 ± 0,48	16,50 ± 0,35	68,57 ± 0,51
<i>Teucrium flavum</i>	12,53 ± 0,20	20,65 ± 0,39	20,50 ± 0,43	79,29 ± 0,65
<i>Teucrium chamaedrys</i>	6,45 ± 0,41	15,49 ± 0,49	41,79 ± 0,69	129,33 ± 0,46

Dobijene vrednosti za antioksidativnu aktivnost ispitivanih ekstrakata su u opsegu od 129,33 do 6,45 $\mu\text{g/ml}$. Vrednosti antioksidativne aktivnosti za vrstu *Teucrium fruticans* su u opsegu od 68,57 do 9,72 $\mu\text{g/ml}$. Za vrstu *Teucrium flavum* od 79,29 do 12,53 $\mu\text{g/ml}$, dok su za vrstu *Teucrium chamaedrys* od 129,33 do 6,45 $\mu\text{g/ml}$. Najveća antioksidativna aktivnost izmerena je za metanolni ekstrakt vrste *Teucrium chamaedrys*, koji neutrališe 50% slobodnih radikala pri koncentraciji od 6,45 $\mu\text{g/ml}$, dok je najmanja aktivnost izmerena za etil acetatni ekstrakt iste vrste. Vrsta *Teucrium fruticans* pokazuje veću antioksidativnu aktivnost od druge dve vrste u etanolnom, acetonskom i etil acetatnom ekstraktu. Vrsta *Teucrium flavum* poseduje veću antioksidativnu aktivnost od vrste *T. chamaedrys* u acetonskom i etil acetatnom ekstraktu. Metanolni i etanolni ekstrakti ispitivanih biljnih vrsta pokazali su najveću antioksidativnu aktivnost. Acetonski ekstrakti pokazali su niže vrednosti antioksidativne aktivnosti, dok su etil acetatni ekstrakti pokazali najnižu aktivnost.

Rezultati istraživanja ukazuju da antioksidativna aktivnost biljnih ekstrakata zavisi od količine fenolnih jedinjenja koja su rastvorljiva u polarnim rastvaračima, kao i na to

da su sekundarni metaboliti iz grupe fenolnih jedinjenja glavne komponente koje doprinose antioksidativnoj aktivnosti ispitivanih vrsta roda *Teucrium*.

Zaključak

Ispitivanjem količine fenolnih jedinjenja i antioksidativne aktivnosti u metanolnom, etanolnom, acetonskom i etil acetatnom ekstraktu vrsta *Teucrium fruticans*, *T. flavum* i *T. chamaedrys* utvrđeno je da najveću količinu ukupnih fenolnih jedinjenja sadrži metanolni ekstrakt vrste *T. chamaedrys*, dok najveću količinu flavonoida sadrži acetonski ekstrakt vrste *T. fruticans*. Ispitivanjem antioksidativne aktivnosti, utvrđeno je da od ispitivanih ekstrakata metanolni ekstrakt vrste *T. chamaedrys* ispoljava najveću antioksidativnu aktivnost. Vrsta *Teucrium chamaedrys* se izdvaja po ukupnoj količini fenolnih jedinjenja i antioksidativnoj aktivnosti.

Napomena

Istraživanja sprovedena u ovom radu deo su projekta III41010 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja.

Literatura

- Frabetti M., Gutiérrez-Pesce P., Mendoza-de Gyves E., Rudini E. (2009). Micropropagation of *Teucrium fruticans* L., an ornamental and medicinal plant. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 45, 129-134.
- Menichini F., Conforti F., Rigano D., Formisano C., Piozzi F., Senatore F. (2009). Phytochemical composition, anti-inflammatory and antitumour activities of four *Teucrium* essential oils from Greece. *Food Chemistry*, 115, 679-686.
- Min G, Chun-Zhao L. (2005). Comparison of techniques for the extraction of flavonoids from cultured cells of *Saussurea medusa* Maxim. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 1461-1463.
- Shi J., Nawaz H., Pohorly J., Mittal G., Kakuda Y., Jiang Y. (2005). Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods-engineering and technology. *Food Reviews International*, 21, 139-166.
- Stanković S.M., Topuzović M., Solujić S., Mihailović V., Antioxidant activity and concentration of phenols and flavonoids in the whole plant and plant parts of *Teucrium chamaedrys* L. var. *glanduliferum* Haussk, *Journal of Medicinal Plant Research*, 2010, 4, 2092-2098.
- Stanković S.M. (2012). Biološki efekti sekundarnih metabolite vrsta roda *Teucrium* L. flore Srbije. Doktorska disertacija. Univerzitet u Kragujevcu.
- Stanković S.M., Petrović M., Godjevac D., Dajić-Stevanović Z. (2015). Screening inland halophytes from the central Balkan for their antioxidant activity in relation to total phenolic compounds and flavonoids: Are there any prospective medicinal plants? *Journal of Arid Environments*, 120, 26-32.

THE TOTAL QUANTITY OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE SELECTED SPECIES OF THE GENUS *TEUCRIUM*

Milan Stanković¹, Nenad Zlatić¹

Abstract: The quantity of phenolic compounds, concentration of flavonoids and antioxidant activity were analysed by means of spectrophotometric methods in methanol, ethanol, acetate and ethyl acetate extract of the species *Teucrium fruticans* L., *T. flavum* L. and *T. chamaedrys* L. (Lamiaceae). The total quantity of phenolic compounds ranged from 45,91 to 271,47 mg GA/g of extract. The concentration of flavonoids varied from 40,56 to 123,64 mg Ru/g of extract. The greatest quantity of phenolic compounds was measured in the methanol extract of the species *T. chamaedrys*, whereas the highest concentration of flavonoids was found in the acetone extract of the species *T. fruticans*. The antioxidant activity was within the range of values between 129,33 and 6,45 µg/ml. The highest antioxidant activity was observed in the methanol extract of the species *T. chamaedrys*, the one in which the greatest quantity of phenolic compounds was found as well.

Key words: *Teucrium*, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity

¹Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija (mstankovic@kg.ac.rs)